

法政大学学術機関リポジトリ
HOSEI UNIVERSITY REPOSITORY

生命情報と生体機能のナノバイオロジー

著者	今井 清博, 片岡 洋右, 大河内 正一, 高月 昭, 石浜 明, 本田 文江, 常重 アントニオ, 平松 豊一, 長井 雅子, 中村 寛夫, 磯貝 泰弘, 原田 慶恵, 堀 洋
出版者	法政大学マイクロ・ナノテクノロジー研究センター
雑誌名	法政大学マイクロ・ナノテクノロジー研究センター年報
巻	2005
ページ	46-62
発行年	2007-03-13
URL	http://hdl.handle.net/10114/924

研究成果概要

生命情報と生体機能のナノバイオロジー

目 的

今世紀は、前世紀から得られつつあるヒトや他の生物種のゲノム情報（DNA 塩基配列）という知的財産を人類の福祉や発展のために利用する時代であるといわれている。そのためには、数万個の遺伝子から成る膨大なゲノム情報の迅速処理・探索技術などの数理工学的解析技術の飛躍的發展に加えて、遺伝子発現（蛋白質生合成）と蛋白質機能の研究を通しての遺伝子の同定が緊急の課題となっている。本プロジェクトでは、1分子計測や1分子操作などのバイオナノテクノロジーを取り入れながら、生命情報解析技術の高度化と有効利用、遺伝子の同定、生命情報の発現・伝達・攪乱メカニズムの解明、細胞機能を基盤にした個体丸ごと生体機能の理解を目指す。

2005年度は、以下の課題を中心にして研究を進めた。

1. 分子進化に学ぶ蛋白質分子設計（今井グループ）
2. 分子シミュレーションによる蛋白質の立体構造-長鎖状分子の構造と相転移（片岡グループ）
3. 生体と水、生体水概念（大河内グループ）
4. ゴルジ膜構造体のダイナミクス制御-構造維持と再構築の機構（高月グループ）
5. ゲノム転写の包括制御機構の解明（石浜グループ）
6. ウイルス感染と細胞周期の分子基盤とした解明（本田グループ）
7. 蛋白質機能における水と水の役割（常重グループ）
8. 情動的遺伝子解析
9. アライメント・アルゴリズム (LAYER METHOD)
10. 変異蛋白質の構造と機能
11. 新規蛋白質分子の設計
12. 遺伝子組み換えによる生体内情報伝達系の解析
13. ナノテクノロジーによる生体内情報伝達系の解析
14. 磁気共鳴分光学による蛋白質物性

成 果

【今井グループ】 分子進化に学ぶ蛋白質分子設計

本年度は、逆分子進化法によって祖先型蛋白質の一次構造を推定し、それらを実際に合成してそれらの構造と機能の特性から、自然が行ってきた蛋白質分子設計の原理・方針を学び取ることを意図した。

ミオグロビン、ヘモグロビンに代表されるグロビン蛋白質は、事実上全生物ドメインに遍在する蛋白質であり、原始グロビンから長い年月を経て分子進化することによりミオグロビンやヘモグロビンなどに機能分化してきてきたと考えられている。

我々は、逆分子進化的手法を用いることにより、このグロビンの分子進化とヘモグロビンの持つアロステリック相互作用を獲得するに至ったメカニズムを解明することを目的としている。そこで本研究では、現存生物のミオグロビンのアミノ酸配列をもとに分子進化系統樹を作成し、最尤法に

より祖先型ミオグロビンのアミノ酸配列を推測した。推測した祖先型ミオグロビンのうち、哺乳類及び脊椎動物の祖先と考えられる配列 (n80 及び n182) について、それぞれ実際に大腸菌を使って蛋白質合成を行った。得られた祖先型ミオグロビンは、どちらもミオグロビン特有の吸収スペクトルを示し、1 分子当り 1 個のヘム (プロトポルフィリン IX) を持ち、可逆的な酸素結合能を有することが示された。これら祖先型蛋白質の酸素結合特性について、現存生物ミオグロビンの文献値や測定データと比較し、グロビンの分子進化について考察した。

【片岡グループ】 分子シミュレーションによる蛋白質の立体構造-長鎖状分子の構造と相転移

1) 長鎖状分子における温度変化にともなう相転移のモンテカルロシミュレーション

長鎖状分子を以下のようにモデル化して、モンテカルロ法によりその構造の温度変化とエネルギーを調べた。30 個の正の電荷を持つモノマーの次に 30 個の負の電荷を持つモノマーが平衡距離からのずれの 4 次の関数で書かれたばねで直線的に結ばれている。隣り合わないモノマー間にはソフトコアポテンシャルと静電的ポテンシャルエネルギーを仮定した。

モンテカルロシミュレーションの方法は通常の方法とレプリカ交換法を使用した。十分高温で直線的に伸びきった構造から出発して、温度を下げてゆき 2 種類の安定構造を得た。ひとつは直線状の 2 重螺旋構造であり、他の一つは球形に丸まった卵形の構造である。われわれのモデルでは直線状の 2 重螺旋構造の方が最安定である。相互作用エネルギーの各部分の寄与を評価した。

2) 階段関数型ポテンシャルに支配された 2 粒子系における負の膨張率の統計力学的研究

粒子間のポテンシャル関数として、剛体壁の外側に有限の高さをもつポテンシャルの山を階段関数で付け加えた。2 粒子だけが球形セルに存在する有限粒子系を統計力学的に調べた。相互作用は粒子間の距離のみに依存する。この性質のために、カノニカル分配関数を閉じた形で得ることができた。配置空間での積分を実行できたのは、ポテンシャルエネルギーが区分的に定数であるためである。

低温で圧力を体積の関数としてプロットすると、圧力に極大と極小が現れた。これはこの体積付近で相転移に相当する状態変化があると期待されることを示している。この変化は同じ境界条件の下でのモンテカルロ法シミュレーションでも確認した。

またこの球形セルに 2 個を含む系と、多数の粒子を含む系との比較のために、108 個の分子を含む周期系のモンテカルロ法シミュレーションを行って、圧力の体積依存性を比較した。分子当たりの体積で同じ程度の領域に、等温圧縮率が負の領域が $N=2$, $N=108$ 両方の系で確認された。このことから球形セルに 2 個を含む系は巨視的な系と似て相転移に似た状態変化を示すことが分かった。

【大河内グループ】 生体と水、生体水の問題

電子とプロトン濃度 (活量) に基づいた ORP (酸化還元電位) -pH による新たな水の評価法を提案し、前回温泉水の評価に応用した。その結果、温泉源泉は電子の多い還元系にあり、湧出後の温泉源泉の時間経過により、酸化されエージングが起こることを明らかにした。さらに、温泉の浴用で一番影響を受ける皮膚についても還元系であり、その内側の体液も還元系、さらに生体を日々維持、成長させるために摂取している野菜・果実、畜産肉類・魚介類すべてが還元系であることを明らかにした。それ故、生体にとって還元系は、非常に重要なキーであることを明らかにした。このこと

から、生体に近い水を、ORP-pH の観点から“生体水”としての提案を行なうことができた。さらに、人工的に生体水に近い水の製造法についての提案を行い、継続的な入浴で、皮膚の弾力性の向上、髪艶および滑らかさの向上が実証できた。今後は、これらのメカニズムについて取り組みたいと考えている。

【高月グループ】 ゴルジ膜構造体のダイナミクス制御-構造維持と再構築の機構

ゴルジ装置はダイナミックな膜構造体で、細胞分裂期には断片化して娘細胞に等分に分配され、その後に速やかに膜構造体が再構築されるが、ゴルジ装置の構築と構造維持の機構は明らかでない。ゴルジ装置ダイナミクスに作用する薬剤は、これらの機構を解析する有用なツールとなることが期待される。そこで、ゴルジ装置ダイナミクス作用物質の探索を行った。

ゴルジ装置ダイナミクス作用物質の探索に際して、本作用物質を濃縮する必要がある。ゴルジ装置ダイナミクスと細胞分裂は密接な関係にあることから、細胞増殖阻害物質の中にゴルジ装置ダイナミクス作用物質が濃縮されていることが期待される。そこで、約 5,000 種類の微生物培養抽出物について、まず、細胞増殖に及ぼす作用を検討し、次いで、細胞増殖阻害を認めた抽出物のゴルジ装置ダイナミクスへの作用を検討した。その結果、期待した通り、高頻度でゴルジ装置ダイナミクス作用を認めた。微小管破壊に伴うゴルジ装置のベシクル化と細胞質分散を抑制するものは、全て、ブレフェルジン A によるゴルジ蛋白質の逆行移行も阻害し、且つ、中心体に作用することを認めた。中心体がゴルジ装置ダイナミクスに関与することを提唱したが、これらの結果からも支持された。今後は、選出されたゴルジ装置ダイナミクス作用物質を特定すると共に、それらの作用を明らかにすることによってゴルジ装置ダイナミクスに果たす中心体の機能を明らかにする予定である。

【石浜グループ】 ゲノム転写の包括制御機構の解明

ゲノム遺伝子全セットから、生育環境に応じて、必要な遺伝子を選択し利用する仕組みを解明することを目標に、ゲノム全遺伝子が今日の技術で解析できる大腸菌（約 4,400 遺伝子）をモデル生物として、ゲノム転写の包括制御機構を解析し、以下の成果をえた。1. DNA チップを用いたマイクロアレイ分析によるゲノム全遺伝子の転写パターンを、大腸菌増殖各時期の培養、環境に各種金属を添加した培養、などで実施し、それぞれの環境で転写が促進または抑制される遺伝子セットを同定した。2. ゲノムの凡そ 1,000 種類の遺伝子から転写プロモーターを単離し、蛍光タンパク GFP をレポーターとするプロモーター活性測定ベクターに挿入したプロモーターコレクションを構築した。これを利用してプロモーター活性と環境応答の網羅的解析を実施した。3. 大腸菌 4,000 遺伝子の転写は、約 300 種類の転写因子で制御されていると推定されている。各転写因子の支配下遺伝子群を同定する目的で、ゲノム DNA 断片コレクションを構築し、純化転写因子が認識結合し、複合体を形成する DNA 断片を単離同定する Genomic-SELEX 法を開発した。大腸菌転写因子約 250 種類を精製し、その 80 種類について、Genomic-SELEX 解析を実施した。4. 調節機能既知の転写因子に関しては、新たに支配下遺伝子を多数同定し、制御ネットワークの全体像を解明できた。5. Genomic-SELEX 法は、とりわけ機能未知の転写因子の調節対象遺伝子群の同定で威力を発揮した。解析した 50 種類の機能未知遺伝子の凡そ半分については、新たに支配下遺伝子群が同定され、大腸菌の自然環境応答のゲノム制御への関わりが示唆された。まとめ： ひとつの生物のゲノム全遺伝子を対象にした転写包括制御の解明を目指した網羅的研究が軌道に乗った。今後、大腸菌転写因子全 300 種の制御ネットワークを解析し、大腸菌転写制御の全体像の解明を目指した全体論的研究を展開し

たい。

【本田グループ】 ウイルス感染と細胞周期の分子基盤とした解明

インフルエンザウイルスゲノムはマイナス鎖 RNA であり、その転写複製はウイルスの遺伝子にコードされている RNA 依存 RNA ポリメラーゼにより行われる。この酵素は 3 種類の蛋白質 (PB1, PB2, PA) の複合体としてゲノム RNA に結合しウイルス粒子に存在する。細胞に感染すると同時にこの酵素は mRNA 合成を開始し、感染後期にゲノム RNA 合成の鋳型となる cRNA 合成を行う。ウイルス RNA を鋳型とし合成開始機構も構造も全く異なる 2 種類の RNA を一種類の酵素が合成するとは考えにくい。ウイルス粒子中に存在するポリメラーゼは試験管内でも合成活性を持つが転写活性、即ち mRNA 合成しか行わない。私たちはポリメラーゼ精製に成功し異なる組み合わせの複合体精製にも成功した。これら三種類の組み合わせからなる複合体(二量体、三量体)による試験管内 RNA 合成を行うと興味深いことに PB1-PB2-PA と PB1-PB2 複合体は転写活性のみを現した。一方 PB1-PA 複合体は複製活性のみを示した。この結果からウイルスポリメラーゼは感染細胞中で細胞因子を利用しその機能変換(転写酵素から複製酵素)を行っていることが予測された。そこでウイルスポリメラーゼ各サブユニットと相互作用する細胞内蛋白質を検索した結果 9 種類の細胞蛋白質が同定された。そのうちのひとつ PB1c45 のウイルス感染への影響、ポリメラーゼ機能への影響を分析したところこの蛋白質はポリメラーゼ機能を阻害しウイルス増殖を抑制することが明らかとなった。この遺伝子の発現調節機構解析を現在行っている。またウイルスが細胞のどのような周期を好んで感染するかを解析する目的でレーザーシステムを利用しウイルスを一細胞へと運搬する系を名古屋大学工学部福田研究室とともに開発した。一細胞へのウイルス感染の成功により細胞周期とウイルス感染の試みが現在進行中である。

【常重グループ】 蛋白質機能における水和の役割

1888 年にホフマイスターが見つけた中性電解質の鶏卵蛋白凝集沈殿能序列は、蛋白質分子の水和水を、電解質イオンと自由水との網目構造に取り込むことによる蛋白質溶解度低下作用の序列であると考えられている。betaine ($(\text{CH}_3)_3\text{CNHCOOH}$) という両親媒性 kosmotrope は、蛋白質には直接影響を与えずに、溶液中に存在する水分子と強く相互作用することが知られている。本研究では、ホフマイスターシリーズの各電解質ならびに betaine が蛋白質機能、とくに、ヘモグロビンの酸素結合特性に及ぼす効果を明らかにした。 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, $\text{CH}_3\text{COONH}_4$, KNO_3 , NaCl , KH_2PO_4 などの電解質の濃度を 10 mM から 1,000 mM まで段階的に高めるにつれて、ヘモグロビンの酸素親和性は単調に低下し、その様子は $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ を除いて共通であった。また、酸素親和性に対する betaine 濃度の効果もこれらの中性電解質のそれらと類似していたが、中性電解質と同等の効果を及ぼす betaine の濃度は 1 M~5 M の高い値が必要とされた。これらの結果は、kosmotrope や中性電解質のヘモグロビン機能に与える効果は、アロステリックな特異効果というよりも水和水を通した間接的な効果によることを意味している。

【平松・関田グループ】 情報的遺伝子解析

- 1) 反応拡散方程式による生命現象の解析を試みている。例えば、神経の情報伝達に関する反応拡散方程式による解析。
- 2) HIV-1 の情報理論的解析の実験的裏付けを理研と協力して実行している。

3) 円分数による Duadic 符号, ストリーム暗号の構成を試みている.

【浦谷・田辺グループ】 アライメント・アルゴリズム (LAYER METHOD)

アライメントのアルゴリズムの中心となる新しいブロックソートアルゴリズムの開発を行なった. ブロックソートアルゴリズムとは, 入力文字列を一つずつ, サイクリックにずらして生成した文字列の集合 S をソートするアルゴリズムである. 具体的にはオリジナルの文字列には 0 を, その他の要素には, オリジナルの文字に対して加えられたずらしの文字数をその番号として与える. ブロックソートの結果は Suffix Array と呼ばれ, $\{0, L, N-1\}$ を並べ替えたものである. Suffix Array は与えられた文字列からの部分列の検索や文字列の圧縮に適したコード化に必要となる. 逆に言えば, 文字列からの部分列検索や文字列圧縮のために必須のプロセスがこのブロックソートであり, ブロックソートは文字列からの部分列検索や文字列圧縮の主要な時間を所要することが知られている.

我々の研究の目的は高速なブロックソートアルゴリズムとその実装の開発であり, その成果は文字列からの部分列検索や文字列圧縮技術に直接貢献するという意義を持つ.

ブロックソートのためのアルゴリズムとしては ternary partitioning, doubling algorithm, copy method などが知られている. quick sort などの汎用アルゴリズムよりも, S に属する文字列群の特殊性を利用したアルゴリズムが有利なのは明らかである. 我々はこの中でも最も高速といわれている copy method に着目し, copy method を改良したアルゴリズム 「layer method」とわれわれが呼ぶ新しい方法を開発した.

実際にプログラムを開発して, layer method の有効性を確認することを試みた. 速度に関する一定の感触は得られた (比較的大規模なテストデータでは copy method に比べて高速であることが確認できた) が, 具体的にチューニングを行ない, 既存研究と本格的に比較するには至っていない. 実装の過程において気づいた点を取り入れた新しいプログラムを開発し, DNA のゲノム列などの具体的なデータに対するパフォーマンスを見る. パフォーマンスが, アルゴリズムや実装のチューニングポイント (軸の選択, データ構造の設計) についてどのように振舞うかを見て, 既存研究との比較を行う.

【長井グループ】 変異蛋白質の構造と機能

蛋白質の高次構造と機能発現のメカニズムを解明する目的で, 遺伝子工学的手法を用いて蛋白質の任意のアミノ酸に置換を導入した変異蛋白質を合成している. モデル蛋白質として α 鎖 2 本 β 鎖 2 本からなる四量体を形成し, 酸素の協同的結合解離に関与して生命を支えているヘモグロビンを用いた. 蛋白質の高次構造変化は主として円偏光二色性 (CD) 及び共鳴ラマン分光法を用いた. 本年度はヘモグロビンの四次構造変化 (R \rightarrow T) に伴って変化する 290nm の負の CD バンド (T マーカーバンド) の起源について 5 種類の変異体を用いて追求した. その結果, 従来考えられていた α 42Tyr や β 37Trp の変化によるのではなく, 主に両鎖の C 末端付近に位置する α 140Tyr と β 145Tyr の変化によることを明らかにした. また, 大腸菌による変異蛋白の合成の際, 補欠分子族のヘムの入り方に正常配位の他に逆転配位するものがあることが判明した. その分子種を分離し, 分光学的性質, 酸素結合機能への影響について調べた.

【磯貝グループ】 新規蛋白質分子の設計

多くの球状タンパク質は、複雑な折りたたみ構造をもっているため、これらをデザインするためには、計算機の利用が欠かせない。我々は、これまでに、計算科学的手法を用いて、任意の立体構造に折りたたまれるアミノ酸配列を設計する手法の研究を行ってきた。この方法では、作りたい立体構造の中にある各アミノ酸部位のタンパク質内部への埋もれ度や二次構造、アミノ酸残基間の親和性など、タンパク質の分子内環境に適合したアミノ酸を選んで並べていくことによって、人工的なアミノ酸配列を設計する。設計した人工タンパク質の合成と構造物性の解析を行い、結果を設計法にフィードバックする。これを繰り返すことによって、設計法の改良を行い、分子内環境と各アミノ酸の適合性を見積もりをある程度正しく出来るようになった。本年度は、この設計法を用いて、 λ ファージ由来 DNA 結合タンパク質 (λ Cro) の立体構造に折りたたまれるアミノ酸配列の設計と合成を行った。 λ Cro は、二次構造として α ヘリックスと β シートをもつ古典的な転写因子で、その立体構造は、DNA の 2 重らせん構造中の大きな溝にフィットするよう精妙にデザインされている。実際に合成された人工 Cro タンパク質は、これまでの人工タンパク質に特有の問題点であった過度の構造揺らぎが解消されており、良好な構造物性を示す単一の立体構造を形成した。そこで、NMR 分光法を使って、その溶液構造を決定した。得られた立体構造は、設計のターゲットとした天然 λ Cro モノマー変異体の X 線結晶構造と比較して、主鎖 RMSD 2.1 Å の精度で一致した。本研究は、複雑な折りたたみ構造をもつ人工タンパク質を、比較的シンプルな計算科学的手法によってデノボ設計することが可能であることを示す。

【中村・飯塚グループ】 遺伝子組み換えによる生体内情報伝達系の解析

細菌は光、酸素、栄養などの環境の変化を感知するために「二成分情報伝達系」というタンパク質ファミリーを多数発達させてきた。本研究ではリガンド結合／解離とそれに伴うタンパク質リン酸化反応の共役のメカニズムの解明に取り組む。「二成分情報伝達系」は動物には存在しないため、このような基本的メカニズムの解明は病原性細菌などに対する抗生物質の開発等に貢献すると期待される。

大腸菌で発現させたジフテリア菌ヘムセンサーのヘム依存的リン酸化

ジフテリア菌は感染時に血液中のヘムを取り込み、ヘム分解酵素で分解することで増殖に必要な鉄元素を取り出す。このヘム分解酵素の遺伝子を発現制御する遺伝子として chrSA が発見された。遺伝学的解析、DNA シークエンスの結果から chrSA 遺伝子は二成分情報伝達系に属するヘムセンサーであることが予測された。我々は昨年度に大腸菌細胞膜に発現させた ChrS タンパク質が自己リン酸化能を有することを明らかにした。今年度の研究では (1) ChrS タンパク質は MgCl_2 存在下でヘム依存的に自己リン酸化活性の上昇を認めることができた。また、(2) 部位特異的変異導入により、21 番目のヒスチジンがヘムによる活性化に重要であることを明らかにした。今後は ChrS タンパク質の可溶化、精製条件を調べる予定である。

【原田グループ】 ナノテクノロジーによる生体内情報伝達系の解析

我々は神経成長因子 (NGF) に蛍光色素 Cy3 を標識し、この蛍光 NGF を用いて、NGF が神経末端に存在する成長円錐膜上の受容体と結合した後の過程を解析している。その結果、1) NGF は、成長円錐膜上の受容体と結合し、初めラメリポディア膜上で 2 次元拡散運動をおこす。このとき、Cy3-NGF・受容体複合体は細胞外に露出した状態である。2) やがて、細胞内アクチンメッシュワークの動きによって成長円錐の周縁から中心部に向かって輸送される。この輸送が開始されるときに

は Cy3-NGF・受容体複合体はまだクラスターを形成していない。3) 輸送の途中、おそらくはラメリポディアのアクチン骨格系と、神経軸索の微小管系が接する Transition zone と呼ばれる領域で Cy3-NGF・受容体複合体は細胞内に取りこまれる。4) 細胞内に取り込まれた Cy3-NGF・受容体複合体は徐々に大きなクラスターを形成していく。5) クラスター化した Cy3-NGF・受容体複合体の一部が軸索輸送によって細胞体に向かって運ばれていく。という一連の過程を明らかにした。NGF の動きは今回の研究によって明らかになったので、今後は、蛍光タンパク質を用いた受容体の可視化や、細胞内シグナル伝達分子の可視化と合わせて実験をすすめていくことにより、細胞内部に光を入れようと考えている。

【堀グループ】 磁気共鳴分光学による蛋白質物性

1) 強磁場EPR法による $S=2$ 整数スピン系の $Mn^{3+}Mb$ の電子状態解析

整数スピン ($S=2$) 系を持つ Mn^{3+} -ポルフィリン置換 Mb ($Mn^{3+}Mb$) を用いて、 $S=2$ スピン系の電子状態を解析した。 $S=2$ 高スピン状態のゼーマンエネルギー準位はスピンハミルトニアン $H = D[S_z^2 - S(S+1)/3] + E(S_x^2 - S_y^2) + \beta S \cdot g \cdot B$ より求まる。 $\Delta S=2$ 遷移を $Mn^{3+}Mb$ の 10GHz 単結晶 EPR で行い、 $g_z=1.93$ 、 $E^2/D=-0.032\text{cm}^{-1}$ である事を報告してきた。D、E の絶対値を決めるために、50GHz 帯の強磁場 (0~12T) EPR を用いて $\Delta S=2$ 以外の遷移を観測し、 $D=-2.44\text{cm}^{-1}$ 、 $E=0.279\text{cm}^{-1}$ である事を報告したが、更に 65、90、122 GHz 帯の高周波数、強磁場 EPR の高感度化を進め、上記 D、E の値が正しい事を確認した。現在論文作成中である。

一方、 $Mn^{3+}Mb$ と同じ整数スピン ($S=2$) 系を持つ還元型高スピンヘム鉄 (Fe^{2+}) を含むデオキシ Hb、Mb の高周波数・強磁場 EPR 測定に向けて準備を進めている。

2) 高速混合凍結法による シトクロム P450 反応中間体の捕捉と EPR による検出

シトクロム P450cam は分子状酸素を活性化して基質 (camphor) に一原子酸素を添加するモノオキシゲナーゼ反応を触媒するヘムタンパク質である。この反応サイクル中で P450cam は電子供与体であるプチダレドキシン (以下 Pdx) から 2 度電子を受け取る。反応サイクル中で、P450cam に酸素分子が添加された後の反応は非常に速く、中間体分子種を検出することは困難である。本研究では、高速混合凍結法を用いて、酸素添加後の反応中間体を捕捉し、EPR で検出し、反応メカニズムを解明する事を目的とする。

今回、基質非結合型 P450cam と過酸 (過酢酸) の反応 (Shunt Pathway) における反応中間体を高速混合凍結 EPR 法で検出する事を試みた。200 μ 秒でポルフィリン π カチオンラジカルと考えられる信号が観測された (Compound I の捕捉)。この信号は -65 $^{\circ}\text{C}$ で 15 分間昇温するとアミノ酸 (チロシン) ラジカルに移行した (Compound II)。解析を進めている。一方、還元型 450cam/Pdx 複合体と酸素飽和溶液の高速混合凍結法で反応中間体の EPR 測定を行った結果、200~500 μ 秒で O_2^- らしき信号が初めて観測された。解析を進めている。

3) 野生型プチダレドキシン (Pdx) の結晶化と X 線結晶構造解析

P450cam の一原子酸素添加反応に於ける電子供与体である Pdx は不安定で、結晶化に成功していなかった。最近、Pdx を安定化する変異型での結晶化が成功し、その構造解析の結果が報告された。我々は野生型 Pdx の高純度精製を試み、安定な Pdx を得、初めて結晶化に成功した。酸化型、還元型 Pdx の X 線結晶構造解析を進めている。

2005 年度業績リスト（生命情報と生体機能のナノバイオロジー）

今井 清博

<論文>

- 1) Miyazaki, A., Nakanishi, T., Shimizu, A., Mizobuchi, M., Yamada, Y. and Imai, K.: “Hb KOCHI [beta141(H19)Leu-->Val (g.1404 C-->G); 144--> 146(HC1-3)Lys-Tyr-His-->O (g.1413 A-->T)]: a new variant with increased oxygen affinity” *Hemoglobin* **29**, 1-10 (2005)

<学会発表>

- 1) 安藝-神 弥生、長友重紀、山本泰彦、長井雅子、今井清博：“組換えヒト・ヘモグロビンのヘムの配向：逆配向ヘムを含むヘモグロビンの酸素結合特性” 日本生物物理学会第 43 回年会 3P086 (2005 年 11 月、札幌コンベンションセンター)
- 2) 石田 学、安田 温、山崎伊織、太田元規、磯貝泰弘、今井清博：“最尤法により推測した祖先型ミオグロビンのアミノ酸配列” 日本生物物理学会第 43 回年会 3P087 (2005 年 11 月、札幌コンベンションセンター)
- 3 見城友崇、常重アントニオ、宮崎源太郎、今井清博：“硬骨魚類マグロのヘモグロビンのアロステリック特性” 日本生物物理学会第 43 回年会 3P088 (2005 年 11 月、札幌コンベンションセンター)
- 4) 小柳 恵、長友重紀、藤瀬良弘、山田 格、三田 肇、山本泰彦、今井清博：“潜水哺乳類ミオグロビン、ヘモグロビンの酸素結合特性” 日本生物物理学会第 43 回年会 3P089 (2005 年 11 月、札幌コンベンションセンター)
- 5) 宮崎彩子、中西豊文、清水 章、伊藤嘉行、安藝弥生、今井清博、“翻訳後修飾を受け る異常ヘモグロビン Hb Sapporo β 143 His→Asn→Asp”、第 52 回日本臨床検査医学会総会・第 45 回日本臨床化学会年会連合退会 (2005 年 11 月)
- 6) Nagai, M., Aki-Jin, Y., Imai, K. and Nagai, Y.: “Changes of near-UV CD spectrum of human hemoglobin upon oxygen binding” 2005 環太平洋国際化学会議 (2005 年 12 月、ホノルル)

片岡 洋右

<論文>

- 1) Y. Yamada, Y. Ueda and Y. Kataoka, “Replica Exchange Monte Carlo Simulations for folding of Di-block Ployampholyte”, J. Computer Chemistry, 4, 127-130 (2005).
- 2) Y. Kataoka and Y. Yamada, “Negative Expansion in Two-Molecule System with the Step Function outside the Hard Sphere Wall in a Spherical Cell”, J. Comput. Chem. Jpn 5, 47-52 (2006)
- 3) 中村知洋、片岡洋右、“光受容タンパク質ロドプシン中の発色団レチナールに対するアミノ酸の影響”、法政大学情報メディア教育研究センター報告、19, 43-46 (2006 年 3 月)
- 4) 今井隆明、片岡洋右、“分子動力学法による塩化カルウムと塩化ナトリウムの気液臨界点と拡散係数”、法政大学計算科学研究センター報告、19, 51-54 (2006 年 3 月)
- 5) 浅沼文彦、片岡洋右、“アルミナ-カーボン系レンガにおけるアルミナと炭素の相互作用エネルギーの検討”、法政大学計算科学研究センター報告、19, 47-49 (2006 年 3 月)

<学会発表>

- 1) 片岡洋右, 山田祐理, “周期的階段関数系の pVT 関係”, 日本コンピュータ化学会 2005 春季年会, (2005 年 5 月)
- 2) 片岡洋右, 山田祐理, “周期的階段関数系の分子動力学”, 第 27 回溶液化学シンポジウム 0-112 (2005 年 11 月)
- 3) 片岡洋右, 山田祐理, “周期的階段関数系の分子シミュレーション,” 第 19 回分子シミュレーション討論会 102S (2005 年 12 月)
- 4) 片岡洋右 “分子系の状態方程式と相転移”, 2006 年春:「第 61 回年次大会」(愛媛大・松山大) 28aRH-3 (2006 年 3 月)

大河内 正一

<論文>

1. S. Okouchi, K. Tsuchida, S. Yoshida, Y. Ishihara, S. Ikeda, and H. Uedaira, “Dynamics of the Hydration of Amino Alcohols and Diamines in Aqueous Solution, 78, 424-429(2005).
2. 大河内正一、大波英幸、甲村和之、森本卓也、池田茂男、“ORP 評価に基づく塩素殺菌した温泉水の泉質変化”、温泉科学会誌、54, 155-162(2005).
3. 大河内正一、大波英幸、庄司未来、大野慶晃、池田茂男、阿岸祐幸、萩原知明、鈴木徹、“電解還元系の人工温泉水の皮膚および髪に与える効果”、温泉科学会誌、55, 55-63(2005).

<著書>

松田忠徳、阿岸祐幸、大河内正一、甘露寺泰雄、“温泉の未来”、くまざさ出版、東京 (2005 年 1 月)

<学会発表>

1. 森本卓也、大河内正一、“ORP (酸化還元電位) による” 源泉かけながし “温泉の鮮度評価—事例研究 (Ⅱ) 北海道川湯温泉について—”、温泉学会第 4 回全国大会報告要旨集、9-11 (2005 年 3 月)
2. 大河内正一、大波英幸、庄司未来、阿岸祐幸、“温泉水 (還元水) の皮膚・髪に与える効果・効能について”、温泉学会第 4 回全国大会報告要旨集、17-20 (2005 年 3 月)
3. 大河内正一、渥美功二、土田和志、吉田史志、石原義正上平恒、“スルホン酸水溶液中における水の動的状態”、日本化学会第 85 回春季年会、1PC-023 (2005 年 3 月)
4. 大河内正一、佐藤亜紀、守吉佑介、“焼成コレマナイトの微生物活性効果について”、日本農芸化学会 2005 年度大会講演要旨集、180 (2005 年 3 月)
5. 大河内正一、佐藤亜紀、小澤美絵、守吉佑介、“焼成コレマナイトに対する防藻評価 (Ⅱ)”、日本防菌防黴学会第 32 年次大会、p. 56 (2005 年 5 月).
6. 大河内正一、佐藤亜紀、大波英幸、守吉佑介、“温泉成分 (ホウ素) の生物活性に与える影響”、無機マテリアル学会第 110 回学術講演会講演要旨集、No. 29 (2005 年 6 月)
7. 大波英幸、大河内正一、大野慶晃、浅井邦康、“マイクロバブルによる人工炭酸泉について”、第 58 回日本温泉科学会大会講演要旨集、41 (2005 年 9 月).
8. 大河内正一、甲村和之、大波英幸、森本卓也、“蒸し湯の ORP-pH 関係”、第 58 回日本温泉科学会大会講演要旨集、42 (2005 年 9 月).

9. 大河内正一、浅井邦康、大波英幸、森本卓也、“入浴剤六一〇ハップ（草津温泉ハップ）の ORP-pH 関係について”、第 58 回日本温泉科学会大会講演要旨集、43(2005 年 9 月)。
10. 大河内正一、大波英幸、福島由美子、佐藤亜紀、浅井邦康、守吉佑介、“多硫化カルシウムの抗菌効果について”、無機マテリアル学会第 111 回学術講演会講演要旨集、46-47(2005 年 11 月)
11. 大河内正一、大波英幸、阿岸祐幸、森本卓也、“電解還元系人工炭酸泉の皮膚及び髪に与える効果・効能について (I)”、第 10 回人工炭酸泉研究会、(2005 年 12 月)。
12. Y. Fukushima, A. Sato, S. Okouchi, "Evaluation of antimicrobial, antifungal and antialgal activities of calcined colemanite", PACIFICHEM 2005, 317(Hawaii, 2005 年 12 月)。
13. H. Ohnami, Y. Ohno, K. Kohmura, S. Okouchi, "Application of water desirable for human body in terms of oxidation-reduction potential(ORP) to pH relationship to human skins and hairs ", PACIFICHEM 2005, 330(Hawaii, 2005 年 12 月)。
14. K. Atsumi, Y. Ishihara, H. Uedaira, S. Okouchi, "Dynamics of the hydration of C₆-compounds with two or three hydroxyl groups in aqueous solutions", PACIFICHEM 2005, 987(Hawaii, 2005 年 12 月)。

<特集記事>

1. 大河内正一、“酸化還元電位 (ORP) と pH から見た健康に適した水”、食品衛生学雑誌、46, J-228-233((2005 年 8 月)。
2. 大河内正一、“新たな水の評価法 ——生体に望ましい水——”、無機マテリアル学会誌、12, 416-422(2005 年 11 月)。

高月 昭

<論文>

- 1) Hakamata, W., Muroi, M., Kadokura, K., Nishio, T., Oku, T., Kimura, A., Chiba, S. and Takatsuki, A.: Aglycon specificity profiling of α -glucosidases using synthetic probes. Bioorg. Med. Chem. Lett., 15, 1489-1492 (2005).
- 2) Watanabe, T., Furukawa, S., Kitamoto, K., Takatsuki, A., Hirata, R., Ogihara, H. and Yamasaki, M.: Vacuolar H⁺-ATPase and plasma membrane H⁺-ATPase contribute to the tolerance against high-pressure carbon dioxide treatment in *Saccharomyces cerevisiae*. Int. J. Food Microbiol., 105, 131-137 (2005).

<学会発表>

- 1) 本吉正幸、根本修孝、鈴木聡司、高月昭：「エストロゲン様化合物のゴルジ装置ダイナミクスに及ぼす作用」、日本農芸化学会大会講演要旨集、p. 132, 2005 年、札幌。

石浜 明

<論文>

- 1) Hayashi, K., Watanabe, T., Tanaka, A., Furumoto, T., Sato-Tsuchiya, C., Kimura, M., Yokoi, M., Ishihama, A., Hanaoka, F. and Ohkuma, Y.: Studies of *Schizosaccharomyces pombe*

- TFIIE indicate conformational and functional changes in RNA polymerase II at transcription initiation. *Genes Cells* 10, 207-224 (2005)
- 2) Imazawa, Y., Hisatake, K., Mitsuzawa, H., Matsumoto, M., Tsukui, T., Nakagawa, K., Nakadai, T., Shimada, M., Ishihama, A. and Nori, Y.: The fission yeast protein, Ker1p, is an ortholog of RNA polymerase I subunit A14 in *Saccharomyces cerevisiae*, and is required for stable association of Rrm3 and RPA21 in Pol I. *J. Biol. Chem.* 280 (12), 11467-11474 (2005)
 - 3) Ishihama, A., Shimada, T., Ogasawara, H., Teramoto, J. and Yamamoto, K.: Transcription factor-promoter interaction networks. In *Micro-Nano Mechatronics and Human Science* (Fukuda, T., ed.), pp. 165-169 (2005)
 - 4) Mitsuzawa, H., Kimura, M., Kanda, E. and Ishihama, A.: Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase associates with RNA polymerase II and interacts with its Rpb7 subunit. *FEBS Letters* 579, 48-52 (2005)
 - 5) Ogasawara, H., Teramoto, J., Hirao, K., Yamamoto, K., Ishihama, A. and Utsumi, R.: Ogasawara, H., Teramoto, J., Hirao, K., Yamamoto, K., Ishihama, A. and Utsumi, R.: Negative regulation of DNA repair gene (*uvrA*) expression by ArcA/ArcB two-component system in *Escherichia coli*. *FEMS Microbiol. Lett.* 251 (2), 243-249 (2005)
 - 6) Shimada, T., Fujita, N., Maeda, M. and Ishihama, A.: Systematic search for the Cra-binding promoters using genomic SELEX. *Genes Cells*, 10 (9), 907-918 (2005).
 - 7) Yamamoto, K. and Ishihama, A.: Transcriptional response of *Escherichia coli* to external copper. *Mol. Microbiol.* 55(1), 215-227 (2005)
 - 8) Yamamoto, K. and Ishihama, A.: Transcriptional response of *Escherichia coli* to external zinc. *J. Bacteriol.*, 187 (18), 6333-6340 (2005)
 - 9) Yamamoto, K., Hirano, K., Ohshima, T., Aiba, H., Utsumi, R. and Ishihama, A.: Cross-talks in signal transduction network among all two-component systems in *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.* 280 (2), 1448-1456 (2005)

<学会発表> (国際会議のみ)

- 1) Ishihama, A.: Understanding the global regulation of genome transcription. Indo-Japan Workshop "Understanding of Chromatin Structure and Functions", Jan 20-23, 2005, Bangalore, India.
- 2) Ishihama, A.: Identification of the regulatory roles of *Escherichia coli* transcription factors with unidentified functions. Jawaharlal Nehru Cent. Adv.Sc. Res. Lecture, Jan. 25, Bangalore, India
- 3) Ishihama, A.: Functional analysis of transcription factors: Strategies and tactics. RNA Polymerase Workshop, March 21-22, 2005. York, UK

本田 文江

<論文>

- 1) Honda, A.: Control of Influenza virus growth by cellular proteins. *Micro-Nano Mechatronics and Human Science*(Fukuda, T. ed), IEEE, pp171-174, 2005

<学会発表>

- 1) Honda, A.: Effect of PB1c45 on influenza virus growth. The 9th Asian-Pacific Conference on Transcription. Taipei, November. 2005
- 2) Honda, A.: Effect of PB1c45 on influenza virus growth. MHS2005 & Micro-Nano COE Advanced Program. Nagoya. November 2005.
- 3) Honda, A.: Host Factor for Influenza Virus replication. 18th RNA polymerase Workshop at University of Birmingham. March, 2006.

常重アントニオ

<学会発表>

- 1) 見城友崇、常重アントニオ、宮崎源太郎、今井清博：“硬骨魚類マグロのヘモグロビンのアロステリック特性” 日本生物物理学会第 43 回年会 3P088 (2005 年 11 月、札幌コンベンションセンター)
- 2) Haga, T. and Tsuneshige, A.: “Diverse effects of amphipathic-amphoteric kosmotropes on the oxygenation properties of human hemoglobin A” 日本生物物理学会第 43 回年会 3P109 (2005 年 11 月、札幌コンベンションセンター)

平松 豊一

<論文>

- 1) 松田修三, 平松豊一, 円分数, 暗号及び2次分割, 京大数理解析研究所講究録1420, pp. 142-149 (2005. 4).

<著書>

- 1) 平松豊一, 応用解析序説, 112 ページ, 牧野書店 (2005. 7)
- 2) 平松豊一, 味村良雄 (共訳, M. アイヒラー著) 二次形式と直交群, シュプリンガー・フェアラーク東京, 復刻版, 268 ページ (2005. 10)
- 3) 池山保, 平松豊一, 理工系のための微分積分, 223 ページ, 裳華房 (2006. 3)

<学会発表>

- 1) 西村滋人, 斎藤正顕, 平松豊一, “On a Riemann hypothesis analogue of genus 1 for the selfdual weight enumerators,” 日本数学会 (2005. 9).
- 2) 多田秀樹, 西村滋人, 斎藤正顕, 平松豊一, “情報理論への共変指数の応用について,” SITA 2005 (2005. 11).

長井 雅子

<論文>

- 1) Nagatomo, S., Nagai, M., Mizutani, Y., Yonetani, T., and Kitagawa, T.: “Quaternary Structures of intermediately ligated human hemoglobin A and influences from strong allosteric effectors: resonance Raman investigation”, Biophys. J., Vol. 89(2), 1203-1213 (2005).

<学会発表>

- 1) 長井雅子、長井幸史、“組換えヒト・ヘモグロビンのCD”、第43回生物物理学会年会 3P085 (2005年11月、札幌)
- 2) 安芸(神) 弥生、長友重紀、山本泰彦、長井雅子、今井清博、“組換えヒト・ヘモグロビンのヘムの配向：逆配向ヘムを含むヘモグロビンの酸素結合機能”、第43回生物物理学会年会 3P086 (2005年11月、札幌)
- 3) Nagai, M., Aki (Jin), Y., Imai, K., and Nagai, Y.: “Changes of near-UV CD spectrum of human hemoglobin upon oxygen binding”, Symposium “*New Approaches in Biomedical Spectroscopy*”, Pacificchem 2005 (Honolulu, Hawaii, USA, Dec.15-20, 2005)

中村 寛夫

<論文>

- 1) Tanaka, A., Nakamura, H., Shiro, Y., and Fujii, H. (2006) Roles of the Heme Distal Residues of FixL in O₂ Sensing: A Single Convergent Structure of the Heme Moiety Is Relevant to the Downregulation of Kinase Activity *Biochemistry* 45(8), 2515 – 2523.
- 2) Kurashima-Ito, K., Kasai, Y., Hosono, K., Tamura, K., Oue, S., Isogai, M., Ito, Y., Nakamura, H., and Shiro, Y. (2005) Solution Structure of the C-Terminal Transcriptional Activator Domain of FixJ from *Sinorhizobium meliloti* and Its Recognition of the fixK Promoter. *Biochemistry* 44, (45)14835-14844.
- 3) Kandori, H., Nakamura, H., Yamazaki, Y., and Mogi, T. (2005) Redox-induced protein structural changes in cytochrome bo revealed by Fourier transform infrared spectroscopy and [13C]Tyr labeling. *J. Biol. Chem.* **280**(38):32821-32826.

<学会発表>

- 1) 中川祥子、山口由夏、城宜嗣、齋藤正男、中村寛夫；ジフテリア菌の細胞膜にあるヘムセンサーキナーゼ ChrS タンパク質；第78回日本生化学会大会（神戸）
- 2) 佐藤雅俊、城宜嗣、中村寛夫；動物細胞におけるヘム輸送；第28回日本分子生物学会年会（福岡）
- 3) 田中敦成、藤井浩、城宜嗣、中村寛夫；酸素センサータンパク質 FixL の自己リン酸化制御におけるヘム遠位側にあるアミノ酸の役割；第28回日本分子生物学会年会（福岡）
- 4) 山口由夏、中川祥子、城宜嗣、齋藤正男、中村寛夫；ジフテリア菌二成分情報伝達系ヘムセンサータンパク質 ChrS の自己リン酸化活性について；第28回日本分子生物学会年会（福岡）

磯貝 泰弘

<論文>

- 1) Y. Isogai, Y. Ito, T. Ikeya, Y. Shiro, M. Ota: “Design of lambda Cro fold: solution structure of a monomeric variant of the de novo protein” *J. Mol. Biol.* **354**, 801-814 (2005)
- 2) 磯貝泰弘：“望みの立体構造をもった人工タンパク質をデザインする”、バイオニクス、2月号、オーム社、68-69 (2006)

< 著書 >

- 1) 太田元規, 磯貝泰弘: “タンパク質の分子設計”、*生物工学ハンドブック* (日本生物工学会編)、コロナ社、pp188-191 (2005)
- 2) 磯貝泰弘、太田元規: “人工タンパク質設計”、*タンパク質科学-構造・物性・機能* (後藤祐児、谷澤克行、桑島邦博 編)、化学同人、pp 363-371 (2005)

< 学会発表 >

- 1) 石田学、安田温、山崎伊織、太田元規、磯貝泰弘、今井清博: “最尤法により推測した祖先型ミオグロビンのアミノ酸配列”、第43回日本生物物理学会年会、2005年11月、札幌
- 2) 磯貝泰弘: “天然蛋白質のアミノ酸配列に見るフォールディング中間体の不安定化機構”、第43回日本生物物理学会年会、2005年11月、札幌
- 3) 今村比呂志、磯貝泰弘、竹清貴浩、谷口吉弘、加藤 稔: “コイルドコイル構造をもつペプチド (GCN4-p1) の温度・圧力に対する二次構造安定性”、第43回日本生物物理学会年会、2005年11月、札幌
- 4) Isogai, Y.: “Native protein sequences are designed to destabilize the folding intermediates”, The 3rd Open Workshop for “Chemistry of Biological Processes Created by Water and Biomolecules”, 2006年1月、岡崎
- 5) Imamura, H., Isogai, Y., Takekiyo, T., Taniguchi, Y., Kato, M.: “Pressure and temperature induced conformational change of coiled coil peptide”, The 3rd Open Workshop for “Chemistry of Biological Processes Created by Water and Biomolecules”, 2006年1月、岡崎

原田 慶恵

< 論文 >

- 1) Ohnishi, T., Hishida, T., Harada, Y., Iwasaki, H. and Shinagawa, H.: Structure-function analysis of the three domains of RuvB DNA motor protein. J. Biol. Chem. 280, 30504-30510, 2005
- 2) Sasuga, Y., Tani, T., Hayashi, M., Yamakawa, H., Ohara, O. and Harada, Y.: Development of a microscopic platform for real-time monitoring of biomolecular interactions. Genome Research, 16, 132-139, 2006

< 著書 >

- 1) 貴家康尋, 原田慶恵: 分子イメージングによる分子間相互作用解析法の開発. バイオテクノロジージャーナル, 羊土社, 5(3), 303-305, 2005
- 2) 原田慶恵: 1分子イメージング. ソフトナノテクノロジー —バイオマテリアル革命— (田中順三, 下村政嗣 監修) 第5編 第4章. シーエムシー出版, 314-324, 2005
- 3) Harada, Y.: Microbead Arrays. The Japan Journal, September, 27, 2005
- 4) 原田慶恵: 1個の生体分子の運動を観る. 総研大ジャーナル, 8, 13-15, 2005
- 5) 原田慶恵: ビーズを用いた生体分子間相互作用解析技術の開発. BIO INDUSTRY, シーエムシー出版, 22(10), 66-74, 2005
- 6) 原田慶恵: 細胞運動解析法. 細胞生物学実験法 III 細胞解析法-IV (大熊勝治 編) 2.3. 廣川書

店, 94-105, 2005

- 7) 谷知己, 原田慶恵: 神経細胞の軸索伸長反応を引き起こす神経成長因子のふるまい: その1分子解析. 生物物理 45(6), 320-323, 2005

<学会発表>

- 1) 原田慶恵: 蛍光1分子イメージングや光ピンセット・磁気ピンセットによる1分子操作で生体分子の機能を探る. 第11回ナノバイオ磁気工学専門研究会, 2005.5.31, 東京
- 2) Tani, T. and Harada, Y.: Trafficking of a ligand-receptor complex on the growth cones as an essential step for the uptake of nerve growth factor at the distal end of the axon: a single-molecule analysis. 第58回日本細胞生物学会大会, 2005.6.15, さいたま
- 3) Hayashi, M. and Harada, Y.: Direct measurement of the unwinding of a single DNA molecule by T7 RNA polymerase. 第58回日本細胞生物学会大会, 2005.6.15-17, さいたま
- 4) Tani T. and Harada, Y.: Single molecule imaging of signal input of nerve growth factor into the growth cone. 15th IUPAB & 5th EBSA International Biophysics Congress, 2005.8.27-9.1, Montpellier, France
- 5) 原田慶恵: Holliday構造DNAの分岐点移動反応の顕微鏡による直接観察. 特定領域「生体ナノシステムの制御」全体会議, 2005.9.9, 東京
- 6) Okabe, K., Ikeda, H., Harada, Y. and Funatsu, T.: Development of real time imaging of specific messenger RNA in a living cell using artificial antisense nucleic acids. 第4回国際核酸化学シンポジウム(SNAC2005), 2005.9.20-22, 福岡
- 7) Ohara, O., Sasuga, Y., Harada, Y., Nagase, T., Hijikata, A., Kimura, Y., Kitamura, H., Shimada, K., Kawai, M., Murakami, M., and Koga, H.: Kazusa Mammalian cDNA Resources: The current status and its extension toward development of new gene/protein functional analysis platforms. Comparative and Functional Genomics (BITS) Workshop, 2005.9.27-30, Cambridgeshire, UK
- 8) 原田慶恵: DNA分子モーターの動作原理の解明 研究領域「ソフトナノマシン等の高次機能構造体の構築と利用」平成17年度領域会議, 2005.10.13, 名古屋
- 9) 原田慶恵: 1分子イメージングで生体分子の機能を探る. 北海道大学21世紀COE共催シンポジウム「バイオとナノの融合ー生物物理学からのアプローチ」第43回日本生物物理学会年会, 2005.11.23-25, 札幌 (招待)
- 10) 横田浩章, 韓龍雲, Allemand, J.-F., Xi, X., Croquette, V., Bensimon, D., 原田慶恵: 1分子力学/蛍光同時計測顕微鏡の開発II. 第43回日本生物物理学会年会, 2005.11.23-25, 札幌
- 11) 岡部弘基, 池田壽文, 原田慶恵, 船津高志: 人工核酸を用いた生きた細胞内における特定のmRNAのリアルタイムイメージング. 第43回日本生物物理学会年会, 2005.11.23-25, 札幌
- 12) 韓龍雲, 谷知己, 林真人, 横田浩章, 菱田卓, 岩崎博史, 品川日出夫, 原田慶恵: Holliday構造DNA分岐点移動反応に関与するRuvA-RuvB蛋白質複合体の動力学的解析. 第43回日本生物物理学会年会, 2005.11.23-25, 札幌
- 13) 貴家康尋, 寺田佳代子, 谷知己, 小原收, 原田慶恵: マイクロビーズアレイ技術を利用した単一細胞タンパク質発現プロファイリング. 第43回日本生物物理学会年会, 2005.11.23-25, 札幌
- 14) 三木俊明, 谷知己, 原田慶恵: ミトコンドリア・チトクロムbc1複合体の構造変化を可視化する

- る試み. 第 43 回日本生物物理学会年会, 2005. 11. 23-25, 札幌
- 15) 山岸舞, 貴家康尋, 寺田佳代子, 原田慶恵, 船津高志 : mRNAの細胞内ラベリングと運動解析. 第 43 回日本生物物理学会年会, 2005. 11. 23-25, 札幌
 - 16) 西中太郎, 土井ゆうこ, 橋本牧子, 柴田武彦, 原田慶恵, 木下一彦, 野地博行, 八島栄次 : RecA-DNA複合体フィラメントのヌクレオチド依存性形状解析. 第 43 回日本生物物理学会年会, 2005. 11. 23-25, 札幌
 - 17) 林真人, 原田慶恵 : 1 分子DNA構造変化計測法を用いた臭化エチジウムのDNAへの結合定数の測定. 第 43 回日本生物物理学会年会, 2005. 11. 23-25, 札幌
 - 18) Sasuga, Y., Ohara, O. and Harada, Y. : Development of a microscopic platform for real-time monitoring of biomolecular interactions. The 9th Asian-Pacific Conference on Transcription, 2005. 12. 12-15, Miaoli (台湾)
 - 19) 三木俊明, 貴家康尋, 谷知己, 原田慶恵 : ミトコンドリアチトクロムbc1 複合体の構造変化を可視化する試み. 第 31 回生体エネルギー研究会, 2005. 12. 19-21, 名古屋
 - 20) 野村真未, 原田慶恵, 谷知己 : 神経軸索再生に関わる成長円錐の観察. 2006 年生体運動研究 研究合同班会議, 2006. 1. 6-9, 東京
 - 21) Han, Y-W., Tani, T., Hayashi, M., Hishida, T., Iwasaki, H., Shinagawa, H. and Harada, Y. : Kinetic analysis of Holliday junction branch migration mediated by RuvA-RuvB . Biophysical Society 50th Annual Meeting, 2006. 2. 18-22, Salt Lake City, USA
 - 22) Sasuga, Y., Tani, T., Hayashi, M., Yamakawa, H., Ohara, O. and Harada, Y. : Development of a microscopic platform for real-time monitoring of biomolecular interactions using microbead array. Biophysical Society 50th Annual Meeting, 2006. 2. 18-22, Salt Lake City, USA

堀 洋

<論文>

- 1) L. Min, N. V. Strushkevich, I. N. Harnastai, H. Iwamoto, A. A. Gilep, H. Takemori, S. A. Usanov, Y. Nonaka, H. Hori, G. P. Vinson and M. Okamoto: Molecular identification of adrenal inner zone antigen as a heme-binding protein. FEBS Journal **272**, 5831-5843 (2005)
- 2) H. Ishikawa, M. Kato, H. Hori, K. Ishimori, T. Kirisako, F. Tokunaga, and K. Iwai: Involvement of Heme Regulatory Motif in Heme-Mediated Ubiquitination and Degradation of IRP2. Molecular Cell **19**, 171-181 (2005).
- 3) K. Matsuura, S. Yoshioka, T. Tosha, H. Hori, K. Ishimori, T. Kitagawa, I. Morishima, N. Kagawa and M. R. Waterman: Structural diversities of active site in clinical azole-bound forms between sterol 14 α -demethylase (CYP51s) from human and *Mycobacterium tuberculosis*. J. Biol. Chem. **280**, 9088-9096 (2005).

<学会発表>

- 1) 小原 裕二、Rehab F. Abdelhamid、Doreen E. Brown、Gregory A. Juda、Erick M. Shepard、David M. Dooley、堀 洋、高妻 孝光 : “シュウドアズリンM16X変異体の分光学的、電気化学的研究” 第 43 回日本生物物理学会年会、2005 年、札幌市

- 2) 堀谷 正樹、八代 晴彦、萩原 政幸、堀 洋：“整数スピン系 ($S=2$) 系を持つ Mn^{2+} -ポルフィリン置換ミオグロビンの強磁場EPR法による電子状態の解析” 第 43 回日本生物物理学会年会、2005 年、札幌市
- 3) Haruto Ishikawa, Hiroshi Hori, Koichiro Ishimori, Takayoshi Kirisako, Fuminori Tokunaga, Kazuhiro Iwai: “Involvement of heme regulatory motif in heme-mediated ubiquitination and degradation of IRP2” 第 78 回日本生化学会大会、2005 年、神戸市
- 4) Rehab F. A. Abdelhamid, Yuji Obara, Doreen E. Brown, Erick M. Shepard, Gregory A. Juda, David M. Dooley, Hiroshi Hori, Takamitsu Kohzuma: “Regulation of the Electronic Structure of Blue Copper Active Site from the Second Sphere Coordination” 第 78 回日本生化学会大会、2005 年、神戸市